www.e-oftalmo.cbo.com.br

Atualização

doi> http://dx.doi.org/10.17545/e-oftalmo.cbo/2017.76

Cross-linking da córnea: protocolo padrão

Cross-linking of the cornea: standard protocol

Cross-linking de la córnea: protocolo estándar

Marcony Rodrigues de Santhiago. Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. marconysanthiago@hotmail.com

RESUMO

A Associação Brasileira de Catarata e Cirurgia Refrativa (ABCCR), com esta revisão sobre o tema, atualiza as indicações da cirurgia que promove novas ligações covalentes entre as fibras de colágeno da córnea, conhecida como Cross-Linking (CXL) e, ainda, esclarece os seus objetivos.

Palavras-Chave:
Córnea;
Ceratocone;
Ceratocone/Prevenção & Controle;
Ceratocone/Procedimentos Cirúrgicos

ABSTRACT

The Brazilian Association of Cataract and Refractive Surgery (ABCCR), with this review on the subject, updates the indications of the surgery that promotes new covalent bonds between the fibers of collagen of the cornea, known as Cross-Linking (CXL) and also clarifies their goals.

Keywords:
Cornea;
Keratoconus;
Keratoconus/Prevention & Control;
Keratoconus/Surgical Procedures

RESUMEN

La Asociación Brasileña de Catarata y Cirugía Refractiva (ABCCR, por sus siglas en portugués), con esta revisión sobre el tema, actualiza las indicaciones de la cirugía que promueve nuevas conexiones covalentes entre las fibras de colágeno de la córnea, conocida como Cross-Linking (CXL) y, además, aclara sus objetivos.

Palabras Clave:
Córnea;
Queratocono;
Queratocono/Prevención & Control;
Queratocono/ Procedimientos Quirúrgicos

Fonte de financiamento: declaro não haver.
Parecer CEP: não se aplica.
Conflito de interesses: declaro não haver.
Recebido em: 09/12/2016
Aprovado em: 12/12/2016
Publicado em: 31/03/2017

Como citar: Santhiago MR. Cross-linking da córnea: protocolo padrão. e-Oftalmo.CBO: Rev Dig Oftalmol. 2017;3(1):1-10.
http://dx.doi.org/10.17545/e-oftalmo.cbo/2017.76

INTRODUÇÃO

Observações de que havia menor progressão do ceratocone em pacientes com diabetes e naqueles mais idosos levou à ideia de que o cross-linking (CXL) natural das fibras de colágeno da córnea, poderia resultar em fortalecimento e enrijecimento dos tecidos.[1] Isso levou ao desenvolvimento da reticulação ou CXL da córnea, um processo no qual uma combinação de um fotoindutor, luz ultravioleta (UV), e uma reação fotoquímica leva à indução de radicais livres, que conduz a uma ligação química entre as fibras de colágeno.

Um estudo inicial em animais revelou um aumento de até 70% da rigidez da córnea, [2] enquanto o primeiro estudo clínico por Wollensak et al. mostrou interromper a progressão e levar a aplanamento da topografia corneana em pacientes com ceratocone.[3] Desde então, vários estudos prospectivos têm ecoado os mesmos resultados em pacientes com ceratocone [4,5,6] e ectasia corneana (daqui em diante denominada "ectasia") após a cirurgia refrativa. [7]

Fotoindutor:

A Riboflavina funciona como um fotoindutor ótimo na reação bioquímica do CXL. Mesmo com ampla gama de absorção é segura para a circulação sistêmica.[8] É, no entanto, uma molécula relativamente grande e sua principal limitação é a penetração adequada no estroma da córnea através de um epitélio íntegro, o que é fundamental para a sua ação eficaz. A técnica padrão (ou tradicional) que será discutida nesta revisão inclui a remoção do epitélio. Várias técnicas de CXL com epitélio íntegro (denominadas "epi on") têm sido estudadas para contornar esse problema, embora a eficácia desses protocolos seja controversa.

Luz Ultravioleta (UV)

A luz UV é o segundo componente importante no CXL. Parâmetros-chave incluem comprimento de onda, fluência e tempo de irradiação, que são específicos para a eficácia e a segurança do tratamento. A gama de pico de absorção de riboflavina para CXL varia entre 360 e 370nm, tal como determinado através de estudos iniciais.[9] As variações na intensidade e duração em estudos pré-clínicos estabeleceram que a máxima rigidez envolveu o uso de 3mW/cm^2 de energia durante 30 minutos, o que correspondeu a uma dose total de energia (fluência) de 5.4J / cm^2, e permitiu a maior eficiência de endurecimento do tecido. Essa forma de utilização foi denominada protocolo padrão ou *Standard* (ou protocolo Dresden). Variações desse protocolo, com maior fluência e menor tempo, foram denominados CXL acelerado.

A reação fotoquímica que leva ao real processo de enrijecimento envolve a riboflavina absorvendo a energia UV e excitação da molécula, para criar espécies reativas de oxigênio. Essa reação induz ligações covalentes entre as próprias moléculas de colágeno da córnea e entre o colágeno e proteoglicanos,[10] num processo que conduz à maior rigidez biomecânica. O oxigênio desempenha um papel fundamental em toda a reação química, embora mais estudos sejam necessários para entender completamente essa relação e de que forma o tempo e a forma de exposição ao oxigênio podem influenciar no resultado do tratamento.

Aplicação e indicações do CXL

Ceratocone

O ceratocone é uma doença ectásica da córnea, bilateral, assimétrica que, principalmente, cursa com encurvamento e afinamentos progressivos, e se inicia em geral na segunda década de vida.[11] O uso primário do CXL tem sido na interrupção da progressão do Ceratocone. Apesar do conhecido encurvamento no estroma da córnea ocorrer nesses pacientes, a fisiopatologia por trás do ceratocone ainda é desconhecida e parece ser multifatorial.

Pela evidência literária disponível até o momento, e discutida em pormenores mais adiante, o CXL da córnea está indicado nos pacientes com doença em progressão:

Principais sinais de progressão

- Aumento de pelo menos 1 dioptria (D) nos parâmetros ceratométricos em 12 meses (m).
- Aumento de pelo menos 0,75 D nos parâmetros ceratométricos em 6 m.

- Aumento da miopia de 0,75D em 12 m em refração sob cicloplegia.
- Perda de pelo menos duas linhas de visão, na melhor visão corrigida em 12 m.

Muito ainda se tem discutido sobre a forma como a paquimetria, ou mapa paquimétrico, pode ser utilizado como documentação de progressão, e consequente indicação de CXL.

Evidência Científica da eficácia do tratamento

O primeiro estudo clínico incluiu pacientes com ceratocone progressivo que foram submetidos ao protocolo padrão (de Dresden), que consistia em aplicar Riboflavina sobre a córnea desepitelizada, previamente à exposição durante 30 minutos a uma fonte de radiação UV com uma intensidade luminosa de 3mW/cm, [2,3] Os primeiro estudos controlados e randomizados confirmaram a eficácia na interrupção da progressão da doença de forma segura, incluindo ainda aplanamento, melhora na acuidade visual, afinamento transitório da córnea durante os seis primeiros meses e melhora dos parâmetros topográficos.[8-12] Raiskup et al.[6] publicaram o estudo com o seguimento mais longo até a presente data, dez anos de acompanhamento de pacientes com ceratocone, confirmando estabilidade, melhora da acuidade visual e dos parâmetros topográficos no longo prazo. Estudos conduzidos por nosso grupo demonstraram que o CXL é também eficaz em pacientes com ceratocone mesmo em fases avançadas da doença.[13]

Em recente revisão sistemática com metanálise em vias de publicação, conduzido por Santhiago e colaboradores, consultando os bancos de dados MEDLINE, CINAHL, Biblioteca Cochrane e EMBASE, e analisando apenas estudos comparativos, foi demonstrado que há evidência científica suficiente para afirmar que o protocolo padrão de CXL, é eficaz na interrupção da progressão da doença. Foram encontrados quinze estudos comparativos entre olhos submetidos ao método padrão de CXL e olhos não submetidos a tratamento, porém em sete artigos não há dados suficientes para análise adequada.[14,15,16,17,18,19,20] Nossa metanálise incluiu, portanto, 396 olhos submetidos ao CXL, avaliados por período que variou de 12 a 36 meses, comparados a 338 olhos não tratados. Outros estudos, não comparativos, corroboram os achados de interrupção de progressão e aparente segurança do tratamento. [3,4,5,6,7,12,21,22,23,24,25,26,27]

Considerando o seu início em geral na segunda década de vida e a natureza progressiva do ceratocone, pacientes pediátricos podem se beneficiar do tratamento com o CXL.[28] Estudos recentes confirmam a eficácia do tratamento, assim como a significativa melhora dos padrões topográficos e acuidade visual.[29,30] Todavia, acompanhamento maior sugere que apesar da melhora inicial, pacientes pediátricos podem apresentar progressão em longo prazo.[31] Estudos adicionais são ainda necessários e devem ter como foco o desenvolvimento de técnicas e um protocolo apropriado, não somente a fim de obter resultados duradouros e eficazes, mas principalmente que sejam seguros para o grupo de pacientes em idade pediátrica. O aconselhamento adequado aos pais é fundamental para que compreendam a natureza progressiva da doença e a necessidade de intervenção.

Sugerimos que se indique o CXL em:

- Ceratocone em progressão documentada na população adulta.
- No diagnóstico de ectasia pós-cirurgia refrativa.
- No diagnóstico de ceratocone na população com menos de 18 anos.

Pacientes com acuidade visual de 20/25 ou melhor, em qualquer idade, podem optar apenas por acompanhamento da doença, pois o CXL também apresenta complicações e pode cursar com baixa visual. Especificamente em crianças que ainda apresentam adequada visão, o objetivo e as potenciais complicações de um eventual tratamento cirúrgico deve ser discutido e esclarecido antes de determinar qualquer conduta.

Ectasia Iatrogênica da Córnea

Ectasia de córnea após cirurgia refrativa (ectasia) ocorre devido à instabilidade biomecânica entre as fibras de colágeno resultando em afinamento da córnea e encurvamento similar ao Ceratocone.[21] É por definição uma alteração progressiva.[32-33]

Estudos iniciais demonstraram que o CXL é eficaz na interrupção da progressão da ectasia[7] e, posteriormente, estudos prospectivos revelaram ainda aplanamento na topografia da córnea e melhora na acuidade visual um ano após o tratamento.[34] Os riscos específicos para CXL no tratamento da ectasia pós-LASIK incluem chance de haze, complicações no *flap* e crescimento epitelial na interface.

Avaliando a eficácia do Tratamento

A principal medida evolutiva para se identificar o resultado do CXL, ou seja, que interrompeu a progressão, é a análise longitudinal da curvatura da córnea. Além dos parâmetros de ceratometria (K), como K máximo, K central, K mais curvo e até K mais plano, as outras variáveis que indicaram a progressão e subsequente indicação do tratamento devem também ser utilizadas para acompanhamento do resultado de estabilização, como acuidade visual e miopia.[12]

Clinicamente uma linha de demarcação estromal, que provavelmente é uma das indicações da profundidade do tratamento, pode ser detectada ao exame com lâmpada de fenda embora seja mais facilmente documentada através da tomografia de coerência óptica (OCT) de segmento anterior e/ou microscopia confocal.[35] Essa linha de demarcação provavelmente representa a transição entre estroma modificado pelo CXL e o estroma não tratado, mas não confirma o limite, até mesmo a presença de uma reação biomecânica, e definitivamente não representa necessariamente as únicas alterações promovidas pelo CXL. A linha de demarcação parece não estar relacionada com a alteração na acuidade visual ou na ceratometria máxima. [36]

Estudos de laboratório mostram dados objetivos que confirmam que o CXL é de fato eficaz, através da visualização, em microscopia eletrônica, do aumento do diâmetro das fibras de colágeno.[37] Além de maior resistência à digestão enzimática, ocorre aumento da rigidez biomecânica indicado pelo aumento no módulo de Young[2] identificados através de modalidades de imagem como a microscopia de força atômica[38] e a microscopia de geração de segundo harmônico. A microscopia de geração de segundo harmônico oferece uma oportunidade de imagem das fibrilas de colágeno em um modo de alto contraste, gerando uma reconstrução tridimensional e detectando diferenças no padrão de lamelas entre córneas tratadas e não tratadas.[39]

A córnea tem propriedades elásticas dinâmicas e por isso a topografia fornece apenas uma fração da informação necessária para determinar a progressão, regressão ou estabilidade da doença. O estudo da biomecânica da córnea fornece informações adicionais que podem levar a uma melhor determinação do que significa eficácia pós CXL.

Acompanhamento e medidas refrativas

Após o CXL para doenças ectásicas da córnea, recomendamos o acompanhamento do paciente de 3 em 3 meses no 1º ano e de 6 em 6 meses a partir do 2º ano. De um modo geral medidas com finalidade refrativa, como adaptação de lente de contato pós CXL, têm melhores resultados após o período mais intenso de remodelamento estromal que dura cerca de 12 meses. Essa tem sido a rotina adotada pelo autor desta revisão e sugerida pela ABCCR.

Parâmetros de segurança e potenciais complicações

Os padrões de segurança estão centrados na proteção de estruturas oculares, tais como o endotélio da córnea, cristalino e retina. Primeiramente, uma espessura da córnea acima de 400µm deve ser respeitada a fim de proteger o endotélio da córnea.[40] Uma vez removido o epitélio, existe o risco de desidratação, causando afinamento significativo em alguns casos. Muitos pacientes que sofrem de ectasia da córnea, dentre elas o Ceratocone, já possuem um afinamento acentuado antes do tratamento.

Protocolos modificados utilizam a Riboflavina hipo-osmolar, que promove retenção de liquido, levando a aumento da espessura em até aproximadamente 25% do valor original e, em alguns casos, chegando até a espessura mínima recomendada. Sabe-se, porém, que em córneas com valores abaixo de 350 µm, é improvável que se chegue até 400 µm. Estudos mais recentes utilizaram a Riboflavina sem Dextran para permitir o aumento da espessura da córnea.[41] Existe uma preocupação a respeito da segurança e eficácia dessas córneas de espessuras “iatrogenicamente modificadas”, uma vez que a resposta ao CXL pode ser menor devido à concentração diminuída das fibras de colágeno em uma córnea artificialmente hidratada.

Outra possível explicação para um risco de menor eficácia se refere ao fato do enrijecimento da córnea após o CXL ocorrer principalmente nas 300µm anteriores, logo, uma córnea excessivamente hidratada pode ser demasiadamente profunda para um tratamento efetivo.[42]

Outra preocupação quanto à segurança inclui as complicações devido ao próprio tratamento. A remoção do epitélio cria uma variedade de riscos: infiltrados, reepitelização tardia e ceratite infecciosa. Quando ocorrem, os infiltrados são estéreis e respondem ao tratamento com corticoide, provavelmente representando uma reação de anticorpos do próprio organismo à modificação do tecido corneano.[43]

Embora venha sendo estudado, o haze na córnea após o CXL ainda não tem seu impacto sobre a visão estabelecido. O dano aos ceratócitos também é uma preocupação, mesmo nas abordagens que preservam o epitélio. No entanto, estudos têm sugerido um repovoamento que ocorre dentro de semanas ou meses após o tratamento. Outros estudos sugerem que a apoptose de ceratócitos pode servir como um indicador para o sucesso do CXL.[44-45]

Remodelamento e aplanamento pós CXL

O remodelamento e enrijecimento associados ao processo cicatricial pós CXL, pode levar a aplanamento muitas vezes significativo, afinamento e até opacidade. Muitos estudos, inclusive alguns conduzidos por nosso grupo,[46,47] já demonstraram que pode acontecer intenso aplanamento pós CXL, podemos ultrapassar 10D. A melhor forma de acompanhar esse aplanamento é através de mapas diferenciais, comparativos.

Os principais motivos relacionados ao aplanamento intenso são provavelmente o aumento localizado do modulo elástico do tecido, profundidade efetiva do tratamento e a localização central do cone. [47,48]

O aumento localizado do módulo elástico é explicado em parte por um ajuste viscoelástico gradual à alteração da distribuição do stress tecidual, imposto por um enrijecimento seletivo da córnea relativo à esclera adjacente. Teoricamente esse enrijecimento associado ao CXL reduz a tensão central da córnea e a transfere para o limbo, possibilitando aplanamento e hipermetropização.

Como um processo fotoquímico, diferentes barreiras biológicas vão desempenhar um papel na profundidade efetiva do tratamento. Dentro desse contexto, respostas diferentes em relação às propriedades biomecânicas ou um maior ou menor aumento no módulo elástico são provavelmente explicadas pela heterogeneidade da doença que envolve a interação intrínseca entre as fibras de colágeno e matriz celular e suas orientações, específicas de cada paciente. Sendo assim, fibras de colágeno com maior espaçamento entre elas, e um entrelaçamento mais defeituoso permite o efeito fotoquímico CXL alcançar áreas mais profundas e provocar um aumento mais intenso na rigidez da córnea. É, provavelmente, por esse motivo que casos mais avançados (topograficamente córneas mais curvas) têm mais chance de maior aplanamento.

A influência da localização central no maior aplanamento está relacionada ao ancoramento à esclera em 360º, possibilitando maior distribuição das foras tensionais e efeito na curvatura.

Protocolo de CXL com maior fluência (método acelerado)

De acordo com a lei da reciprocidade de Bunsen-Roscoe, o mesmo efeito fotoquímico poderia ser alcançado com a redução do tempo de iluminação e correspondente aumento da intensidade de irradiação. De forma que 3 minutos de irradiação a 30 mW/cm^2, 5 minutos de irradiação a 18 mW/cm^2 ou 10 minutos de irradiação a 9 mW/cm^2 deveriam prover o mesmo efeito obtido com 30 minutos de irradiação a 3 mW/cm^2. Uma vez que todas as combinações de tempo e intensidade resultariam a mesma quantidade de energia 5,4 J/cm^2.

Há uma grande variação nos parâmetros utilizados nos diferentes estudos que utilizam o método acelerado. As intensidades luminosas descritas variam de 7 a 30 mW/cm^2 com tempo de irradiação entre 3 e 15 minutos e um tempo de exposição à Riboflavina pré-irradiação entre 5 e 30 minutos. Todavia, apesar de ainda não haver um protocolo padrão para a forma acelerada, os resultados concordam em revelar interrupção da progressão, estabilidade nos valores ceratométricos e, em alguns casos, até mesmo aplanamento da córnea.[49,50,51,52,53,54]

Novas indicações do CXL

Além das indicações iniciais a fim de estabilizar o processo da doença ectásica, recentemente novas indicações foram avaliadas, que incluem a combinação do CXL combinado ao excimer laser denominado CXL plus[55] e o PACK-CXL (denominado cromóforo fotoativado para ceratite) usando os princípios do CXL para tratar infecções da córnea.[56]

CXL Plus

O termo CXL plus refere-se à combinação de CXL com excimer laser. A ceratectomia fotorrefrativa (PRK) guiada pela topografia permite remodelar a córnea, teoricamente tornando-a mais regular, sem abordar a natureza progressiva da doença. Estudos têm mostrado uma melhora na acuidade visual e estabilidade com PRK topoguiado com CXL.[57]

A eficácia e segurança deste tipo de tratamento sequencial, a profundidade do tratamento máximo e o uso de mitomicina C ainda são assuntos em debate. Caso seja realmente seguro em longo prazo, a associação de PRK Topoguiado seguido do CXL pode ser promissora para a reabilitação visual e interrupção da progressão da doença.

Além de potenciais complicações documentadas como opacidade ou afinamento, ainda há muito a se aprender sobre como, por exemplo, deve ser a sequência adequada de combinação, antes o PRK guiado pela topografia e depois o CXL ou o contrário; se devem ser feitos imediatamente em sequência ou aguardar algum tempo e depois realizar o segundo procedimento. Caso se realize primeiramente o PRK guiado e depois o CXL, poderíamos ter uma grande imprevisibilidade do tratamento pelo processo de remodelamento associado ao CXL, conforme já foi discutido. Seria então melhor realizar o CXL, esperar o remodelamento em aproximadamente 12 meses e somente depois realizar a cirurgia guiada pela topografia. Deve-se lembrar que neste caso excimer laser seria empregado sobre uma córnea teoricamente modificada, enrijecida, e a taxa de ablação seria diferente, pois ocorreria hipocorreção. Teríamos que compreender melhor as taxas de ablação do excimer laser após o CXL.

Além disso, deve-se compreender que quando se trata de excimer laser em córneas com ceratocone, a opção que tem sido mais estudada e aceita, é o PRK guiado pela topografia. Isso porque diferentemente de outras modalidades de PRK convencional ou até mesmo guiado por frente de onda, o PRK guiado pela topografia realiza uma combinação de PRK miópico parcial no ápice do cone com um PRK hipermetrópico na área adjacente. Dessa forma há uma menor remoção de tecido da área mais fina e mais afetada pela doença. É importante lembrar ainda que a principal função desse tipo de tratamento guiado pela topografia não é correção refrativa e sim a regularização da córnea.

Tratamentos guiados por frente de onda parecem não ser menos adequados que os guiados por topografia, primeiro pela dificuldade de se obter exames de aberrometria confiáveis e reprodutíveis em córneas tão irregulares, segundo porque neste tipo de tratamento o software iria identificar a área mais aberrada (geralmente ápice do cone) e tentar regularizá-la ao máximo, podendo significar afinamento excessivo em uma área já doente.

Cromóforo fotoativado para ceratite - PACK-CXL

Em adição ao tratamento da ectasia, os princípios básicos do CXL já foram sugeridos como opção de tratamento para ceratite infecciosa denominado "*photoactivated chromophore for keratitis*" (PACK-CXL) ou cromóforo fotoativado usado para o tratamento da ceratite infeciosa.[56] Teorias incluem a capacidade para danificar diretamente o micro-organismo e aumentar a resistência a danos enzimáticos, impedir a replicação microbiana, liberar radicais livres e alterar a superfície ocular com o propósito de criar um ambiente hostil para mais microrganismos.

Estudos in vivo em animais mostraram eficácia no tratamento de patógenos em ceratites desafiadoras, enquanto dados clínicos mostram melhoria na ceratite com o uso concomitante de antimicrobianos.[57] O único estudo prospectivo comparativo que avalia o uso da medicação sozinha versus a medicação associada ao PACK-CXL foi descrito por Said et al., e revelou que o tempo de cura era o mesmo com uma tendência de resolução mais rápida no grupo PACK-CXL.[58] Uma revisão sistemática e metanálise de 12 séries de casos sugeriu um melhor tempo de cicatrização em casos relacionados a bactérias e pior prognóstico e maior risco de transplante em casos de fungo, acantameba e gram negativos.[59]

Os protocolos acelerados parecem também ser capazes de tratar e eliminar agentes patogênicos, permitindo um tratamento mais breve e com resolução equivalente quanto à morte dos patógenos. Alguns relatos de caso sugerem que o PACK-CXL sozinho pode ajudar no tratamento da ceratite infecciosa, mas estudos maiores são necessários.

Estudo prospectivos randomizados comparando o tratamento com medicamento versus medicamento com PACK-CXL, versus PACK-CXL seriam ideais, mas existem considerações éticas relevantes. Independentemente, o PACK-CXL oferece outra opção de tratamento para casos difíceis de ceratite microbiana.

Em conclusão, existe evidência suficiente para afirmar que o CXL da córnea é eficaz na estabilização da doença ectasia. ABCCR corrobora as indicações de acordo com a literatura mundial.

REFERÊNCIAS

1. ↲ Daxer A, Misof K, Grabner B, Ettl A, Fratzl P. Collagen fibrils in the human corneal stroma: structure and aging. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1998;39(3):644-8. Disponível em: http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2181258

2. ↲ ↲ ↲ Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking. J Cataract Refract Surg. 2003;29(9):1780-5. http://dx.doi.org/10.1016/S0886-3350(03)00407-3

3. ↲ ↲ ↲ Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. Am J Ophthalmol. 2003;135(5):620-7. http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9394(02)02220-1

4. ↲ ↲ Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S, Caporossi T. Long-term results of riboflavin ultraviolet a corneal collagen cross-linking for keratoconus in Italy: the Siena eye cross study. Am J Ophthalmol. 2010;149(4):585-93. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2009.10.021

5. ↲ ↲ Vinciguerra P, Albe E, Trazza S, Rosetta P, Vinciguerra R, Seiler T, et al. Refractive, topographic, tomographic, and aberrometric analysis of keratoconic eyes undergoing corneal cross-linking. Ophthalmology. 2009;116(3):369-78. http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2008.09.048

6. ↲ ↲ ↲ Raiskup F, Theuring A, Pillunat LE, Spoerl E. Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in progressive keratoconus: ten-year results. J Cataract Refract Surg. 2015;41(1):41-6. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2014.09.033

7. ↲ ↲ ↲ Hafezi F, Kanellopoulos J, Wiltfang R, Seiler T. Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet A to treat induced keratectasia after laser in situ keratomileusis. J Cataract Refract Surg. 2007;33(12):2035-40. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2007.07.028

8. ↲ ↲ Edwards AM. Structure and general properties of flavins. Methods Mol Biol. 2014;1146:3-13. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-0452-5_1

9. ↲ Spoerl E, Mrochen M, Sliney D, Trokel S, Seiler T. Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea. Cornea. 2007;26(4):385-9. http://dx.doi.org/10.1097/ICO.0b013e3180334f78

10. ↲ Zhang Y, Conrad AH, Conrad GW. Effects of ultraviolet-A and riboflavin on the interaction of collagen and proteoglycans during corneal cross-linking. J Biol Chem. 2011;286(15):13011-22. http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M110.169813

11. ↲ Krachmer JH, Feder RS, Belin MW. Keratoconus and related noninflammatory corneal thinning disorders. Surv Ophthalmol. 1984;28(4):293-322. http://dx.doi.org/10.1016/0039-6257(84)90094-8

12. ↲ ↲ ↲ Ghanem RC, Santhiago MR, Berti T, Netto MV, Ghanem VC. Topographic, corneal wavefront, and refractive outcomes 2 years after collagen crosslinking for progressive keratoconus. Cornea. 2014;33(1):43-8. http://dx.doi.org/10.1097/ICO.0b013e3182a9fbdf

13. ↲ Giacomin NT, Netto MV, Torricelli AA, Marino GK, Bechara SJ, Espíndola RF, et al. Corneal collagen cross-linking in advanced keratoconus: a 4-year follow-up study. J Refract Surg. 2016;32(7):459-65. http://dx.doi.org/10.3928/1081597X-20160429-01

14. ↲ Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S, Caporossi T. Long-term results of riboflavin ultraviolet a corneal collagen cross-linking for keratoconus in Italy: the Siena eye cross study. Am J Ophthalmol. 2010;149:585-93. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2009.10.021

15. ↲ Coskunseven E, Jankov MR 2nd, Hafezi F. Contralateral eye study of corneal collagen cross-linking with riboflavin and UVA irradiation in patients with keratoconus. J Refract Surg. 2009;25(4):371-6. Abstract disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Contralateral+eye+study+of+corneal+collagen+cross-linking+with+riboflavin+and+UVA+irradiation+in+patients+with+keratoconus

16. ↲ Hersh PS, Greenstein SA, Fry KL. Corneal collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: one-year results. J Cataract Refract Surg. 2011;37(1):149-60. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2010.07.030

17. ↲ Henriquez MA, Izquierdo L Jr, Bernilla C, Zakrzewski PA, Mannis M. Riboflavin/ultraviolet a corneal collagen cross-linking for the treatment of keratoconus: visual outcomes and Scheimpflug analysis. Cornea. 2011;30(3):281-6. http://dx.doi.org/10.1097/ICO.0b013e3181eeaea1

18. ↲ Wittig-Silva C, Chan E, Islam FM, Wu T, Whiting M, Snibson GR. A randomized, controlled trial of corneal collagen cross-linking in progressive keratoconus: three-year results. Ophthalmology. 2014;121(4):812-21. http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2013.10.028

19. ↲ Viswanathan D, Males J. Prospective longitudinal study of corneal collagen cross-linking in progressive keratoconus. Clin Exp Ophthalmol. 2013;41(6):531-6. http://dx.doi.org/10.1111/ceo.12035

20. ↲ Seyedian MA, Aliakbari S, Miraftab M, Hashemi H, Asgari S, Khabazkhoob M. Corneal collagen cross-linking in the treatment of progressive keratoconus: a randomized controlled contralateral eye study. Middle East Afr J Ophthalmol. 2015;22(3):340-5. http://dx.doi.org/10.4103/0974-9233.159755

21. ↲ Greenstein SA, Fry KL, Hersh PS. In vivo biomechanical changes after corneal collagen cross-linking for keratoconus and corneal ectasia: 1-year analysis of a randomized, controlled, clinical trial. Cornea. 2012;31(1):21-5. http://dx.doi.org/10.1097/ICO.0b013e31821eea66

22. ↲ Greenstein SA, Fry KL, Hersh MJ, Hersh PS. Higher-order aberrations after corneal collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia. J Cataract Refract Surg. 2012;38(2):292-302. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2011.08.041

23. ↲ Greenstein SA, Fry KL, Hersh PS. Corneal topography indices after corneal collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: one-year results. J Cataract Refract Surg. 2011;37(7):1282-90. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2011.01.029

24. ↲ Khattak A, Nakhli FR, Cheema HR. Corneal collagen crosslinking for progressive keratoconus in Saudi Arabia: One-year controlled clinical trial analysis. Saudi J Ophthalmol. 2015;29(4):249-54. http://dx.doi.org/10.1016/j.sjopt.2015.02.005

25. ↲ Lamy R, Netto CF, Reis RG, Procopio B, Porco TC, Stewart JM, et al. Effects of corneal cross-linking on contrast sensitivity, visual acuity, and corneal topography in patients with keratoconus. Cornea. 2013;32(5):591-6. http://dx.doi.org/10.1097/ICO.0b013e31826672e2

26. ↲ Lang SJ, Messmer EM, Geerling G, Mackert MJ, Brunner T, Dollak S, et al. Prospective, randomized, double-blind trial to investigate the efficacy and safety of corneal cross-linking to halt the progression of keratoconus. BMC Ophthalmol. 2015;15:78. http://dx.doi.org/10.1186/s12886-015-0070-7

27. ↲ O'Brart DP, Chan E, Samaras K, Patel P, Shah SP. A randomised, prospective study to investigate the efficacy of riboflavin/ultraviolet A (370 nm) corneal collagen cross-linkage to halt the progression of keratoconus. Br J Ophthalmol. 2011;95(11):1519-24. http://dx.doi.org/10.1136/bjo.2010.196493

28. ↲ Leoni-Mesplie S, Mortemousque B, Touboul D, Malet F, Praud D, Mesplie N, et al. Scalability and severity of keratoconus in children. Am J Ophthalmol. 2012;154(1):56-62. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2012.01.025

29. ↲ Uçakhan ÖÖ, Bayraktutar BN, Saglik A. Pediatric corneal collagen cross-linking: long-term follow-up of visual, refractive, and topographic outcomes. Cornea. 2016;35(2):162-8. http://dx.doi.org/10.1097/ICO.0000000000000702

30. ↲ McAnena L, Doyle F, O'Keefe M. Cross-linking in children with keratoconus: a systematic review and meta-analysis. Acta Ophthalmol. 2016. http://dx.doi.org/10.1111/aos.13224

31. ↲ Vinciguerra P, Albe E, Frueh BE, Trazza S, Epstein D. Two-year corneal cross-linking results in patients younger than 18 years with documented progressive keratoconus. Am J Ophthalmol. 2012;154(3):520-6. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2012.03.020

32. ↲ Randleman JB, Woodward M, Lynn MJ, Stulting RD. Risk assessment for ectasia after corneal refractive surgery. Ophthalmology. 2008;115(1):37-50. http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2007.03.073

33. ↲ Santhiago MR, Smadja D, Gomes BF, Mello GR, Monteiro ML, Wilson SE, et al. Association between the percent tissue altered and post-laser in situ keratomileusis ectasia in eyes with normal preoperative topography. Am J Ophthalmol. 2014;158(1):87-95. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2014.04.002

34. ↲ Richoz O, Mavrakanas N, Pajic B, Hafezi F. Corneal collagen cross-linking for ectasia after LASIK and photorefractive keratectomy: long-term results. Ophthalmology. 2013;120(7):1354-9. http://dx.doi.org/10.1016/j. ophtha.2012.12.027

35. ↲ Kymionis GD, Grentzelos MA, Plaka AD, Tsoulnaras KI, Diakonis VF, Liakopoulos DA, et al. Correlation of the corneal collagen cross-linking demarcation line using confocal microscopy and anterior segment optical coherence tomography in keratoconic patients. Am J Ophthalmol. 2014;157(1):110-5. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2013.09.010

36. ↲ Bouheraoua N, Jouve L, El Sanharawi M, Sandali O, Temstet C, Loriaut P, et al. Optical coherence tomography and confocal microscopy following three different protocols of corneal collagen-crosslinking in keratoconus. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2014;55(11):7601-9. http://dx.doi.org/10.1167/iovs.14-15662

37. ↲ Wollensak G, Wilsch M, Spoerl E, Seiler T. Collagen fiber diameter in the rabbit cornea after collagen crosslinking by riboflavin/UVA. Cornea. 2004;23(5):503-7. Abstract disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=PMID%3A+15220736

38. ↲ Seifert J, Hammer CM, Rheinlaender J, Sel S, Scholz M, Paulsen F, et al. Distribution of Young's modulus in porcine corneas after riboflavin/UVA-induced collagen cross-linking as measured by atomic force microscopy. PloS One. 2014;9(1):e88186. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0088186

39. ↲ Tan HY, Chang YL, Lo W, Hsueh CM, Chen WL, Ghazaryan AA, et al. Characterizing the morphologic changes in collagen crosslinked-treated corneas by Fourier transform-second harmonic generation imaging. J Cataract Refract Surg. 2013;39(5):779-88. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2012.11.036

40. ↲ Kymionis GD, Portaliou DM, Diakonis VF, Kounis GA, Panagopoulou SI, Grentzelos MA. Corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet-A irradiation in patients with thin corneas. Am J Ophthalmol. 2012;153(1):24-8. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2011.05.036

41. ↲ Hafezi F, Mrochen M, Iseli HP, Seiler T. Collagen crosslinking with ultraviolet-A and hypoosmolar riboflavin solution in thin corneas. J Cataract Refract Surg. 2009;35(4):621-4. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2008.10.060

42. ↲ Hafezi F. Limitation of collagen cross-linking with hypoosmolar riboflavin solution: failure in an extremely thin cornea. Cornea. 2011;30(8):917-9. http://dx.doi.org/10.1097/ICO.0b013e31820143d1

43. ↲ Ghanem RC, Netto MV, Ghanem VC, Santhiago MR, Wilson SE. Peripheral sterile corneal ring infiltrate after riboflavin-UVA collagen cross-linking in keratoconus. Cornea. 2012;31(6):702-5. http://dx.doi.org/10.1097/ICO.0b013e318226da53

44. ↲ Greenstein SA, Fry KL, Bhatt J, Hersh PS. Natural history of corneal haze after collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: scheimpflug and biomicroscopic analysis. J Cataract Refract Surg. 2010;36(12):2105-14. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2010.06.067

45. ↲ Armstrong BK, Lin MP, Ford MR, Santhiago MR, Singh V, Grossman GH, et al. Biological and biomechanical responses to traditional epithelium-off and transepithelial riboflavin-UVA CXL techniques in rabbits. J Refract Surg. 2013;29(5):332-41. http://dx.doi.org/10.3928/1081597X-20130415-04

46. ↲ Hafezi F, Koller T, Vinciguerra P, Seiler T. Marked remodeling of the anterior corneal surface following collagen cross-linking with riboflavin and UVA. Br J Ophthalmol. 2011;95:1171-2. http://dx.doi.org/10. 1136/bjo.2010.184978

47. ↲ ↲ Santhiago MR, Giacomin NT, Medeiros CS, Smadja D, Bechara SJ. Intense early flattening after corneal collagen cross-linking. J Refract Surg. 2015;31(6):419-22. http://dx.doi.org/10.3928/1081597X-20150521-09

48. ↲ Roy AS, Dupps WJ Jr. Patient-specific computational modeling of keratoconus progression and differential responses to collagen cross-linking. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011;52:9174-87. http://dx.doi.org/10.1167/iovs.11-7395

49. ↲ Ozgurhan EB, Akcay BI, Kurt T, Yildirim Y, Demirok A. Accelerated corneal collagen cross-Linking in thin keratoconic corneas. J Refract Surg. 2015;31:386-90. http://dx.doi.org/10.3928/1081597X-20150521-11

50. ↲ Shetty R, Pahuja NK, Nuijts RM, Ajani A, Jayadev C, Sharma C, et al. Current protocols of corneal collagen cross-linking: visual, refractive, and tomographic outcomes. Am J Ophthalmol. 2015;160:243-9. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2015.05.019

51. ↲ Kymionis GD, Grentzelos MA, Kankariya VP, Liakopoulos DA, Portaliou DM, Tsoulnaras KI, et al. Safety of high-intensity corneal collagen crosslinking. J Cataract Refract Surg. 2014;40:1337-40. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2013.11.041

52. ↲ Seiler T, Hafezi F. Corneal cross-linking-induced stromal demarcation line. Cornea. 2006;25:1057-9. http://dx.doi.org/10.1097/01.ico.0000225720.38748.58

53. ↲ Touboul D, Efron N, Smadja D, Praud D, Malet F, Colin J. Corneal confocal microscopy following conventional, transepithelial, and accelerated corneal collagen cross-linking procedures for keratoconus. J Refract Surg. 2012;28:769-76. http://dx.doi.org/10.3928/1081597X-20121016-01

54. ↲ Kymionis GD, Tsoulnaras KI, Grentzelos MA, Plaka AD, Mikropoulos DG, Liakopoulos DA, et al. Corneal stroma demarcation line after standard and high-intensity collagen crosslinking determined with anterior segment optical coherence tomography. J Cataract Refract Surg. 2014;40:736-40. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2013.10.029

55. ↲ Kymionis GD, Grentzelos MA, Portaliou DM, Kankariya VP, Randleman JB. Corneal collagen cross-linking (CXL) combined with refractive procedures for the treatment of corneal ectatic disorders: CXL plus. J Refract Surg. 2014;30(8):566-76. http://dx.doi.org/10.3928/1081597X-20140711-10

56. ↲ ↲ Hafezi F, Randleman JB. PACK-CXL: defining CXL for infectious keratitis. J Refract Surg. 2014;30(7):438-9. http://dx.doi.org/10.1186/s40662-016-0042-x

57. ↲ ↲ Martins SA, Combs JC, Noguera G, Camacho W, Wittmann P, Walther R, et al. Antimicrobial efficacy of riboflavin/UVA combination (365 nm) in vitro for bacterial and fungal isolates: a potential new treatment for infectious keratitis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008;49(8):3402-8. http://dx.doi.org/10.1167/iovs.07-1592

58. ↲ Said DG, Elalfy MS, Gatzioufas Z, El-Zakzouk ES, Hassan MA, Saif MY, et al. Collagen cross-linking with photoactivated riboflavin (PACK-CXL) for the treatment of advanced infectious keratitis with corneal melting. Ophthalmology. 2014;121(7):1377-82. http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.01.011

59. ↲ Alio JL, Abbouda A, Valle DD, Del Castillo JM, Fernandez JA. Corneal cross linking and infectious keratitis: a systematic review with a meta-analysis of reported cases. J Ophthalmic Inflamm Infect. 2013;3(1):47. http://dx.doi.org/10.1186/1869-5760-3-47

Marcony Rodrigues de Santhiago

http://orcid.org/0000-0001-7523-1565

http://lattes.cnpq.br/4314181290873302